UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

207

IMPERIAL MYCOLOGICAL INSTITUTE
4 MAR 1947

O. VERONA

Di una singolare vegetazione microbica del sapone

Estratto dagli ANNALI DELLA FACOLTÀ DI AGRARIA
NUOVA SERIE - VOLUME VI - (XLIV DALLA FONDAZIONE)
— 1945 —

ARTI GRAFICHE TORNAR - PISA

UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

207

O. VERONA

Di una singolare vegetazione microbica del sapone

Estratto dagli ANNALI DELLA FACOLTÀ DI AGRARIA
NUOVA SERIE - VOLUME VI - (XLIV DALLA FONDAZIONE)
— 1945 —

ARTI GRAFICHE TORNAR - PISA

RIASSUNTO - L' A. riferisce di avere isolato da vegetazioni microbiche presenti su sapone un *Micrococcus* sp. unito a *Pen. crustosum, Pen. flavidorsum* e a un *Cladosporium* sp. Queste specie si sono dimostrate in parte alcali-tolleranti e in parte capaci di attaccare i grassi.

In questi ultimi tempi mi è stato dato di osservare in sapone da bucato acquistato al libero commercio e conservato in casa, un singolare ammuffimento che, data la rarità del reperto, penso valga la pena di segnalare.

Trattavasi di sapone in pezzi da 100 e 200 gr., di colore verde, all'apparenza non ben secco, visibilmente ricoperto su larghe zone di una vegetazione micelica bianca e, in alcuni punti, di color verde-fuligineo; in altre parti, miste alle vegetazioni miceliche, od anche isolate, apparivano invece piccole escrescenze regolari, sferiche, di mm. 1-2 di diametro, isolate o confluenti, di color ocra chiaro.

L'esame microscopico diretto mise in evidenza, nel primo caso, formazioni miceliche non fruttificate; nel secondo, indicò trattarsi di colonie di uno Schizomicete.

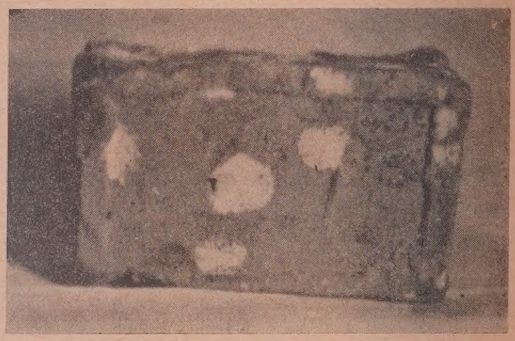
Non fu difficile di procedere all'isolamento di queste forme disseminando aliquote del materiale stemperato in acqua sterile, in piastre allestite con agar-fagiuoli ed agar-carote. Accanto a pochissime specie inquinanti, nelle piastre di isolamento presero sviluppo, dopo 6-7 giorni di coltura a 24° C., numerose colonie del batterio, del tutto simili per forma, dimensioni e aspetto a quelle riscontrate nel sapone e colonie di due *Penicillium* sp. e di un fungo demaziaceo.

RIFERIMENTO SISTEMATICO DELLE SPECIE ISOLATE.

1 - *Micrococcus saponophilus* n. sp. ad interim.

Su agar fagiuoli saccarosato forma una patina di color giallo, rilevata leggermente, non continua, lucente, umida, fortemente mucosa, di lento sviluppo.

Sviluppo scarso o assente in agar nutritivo, in gelatina di carne, su carota e su patata. Nel latte provoca, dopo molto tempo, coagulazione e pepto-



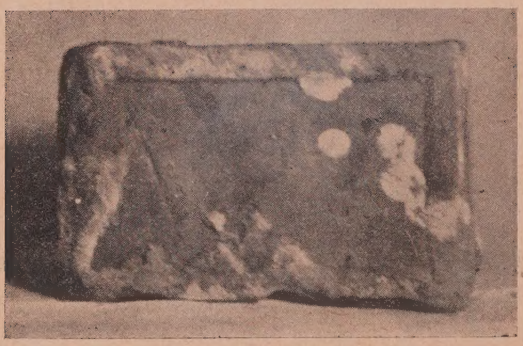


FIG. 1 - Aspetto del sapone alterato.

nizzazione. Sviluppo notevole, invece, su blocchetti di sapone sterile ove forma piccole colonie confluenti, gialle, del tutto simili a quelle rinvenute nei pezzi originari.

Morfologicamente trattasi di un cocco mobile, Gram-negativo, di μ 1.7 -

2 di diametro, isolato, accoppiato o in piccoli ammassi, provvisto di capsula. Con violetto anilinico di genziana, con carbolfucsina di Ziehl, con bleu di metilene di Kuhn, si colora generalmente bene; talvolta però la colorazione si limita alla membrana e ad un corpicciuolo rotondeggiante centrale o eccentrico.

FIG. 2 - Sviluppo sperimentale su blocchetti di sapone sterile di *Micrococcus* sp.

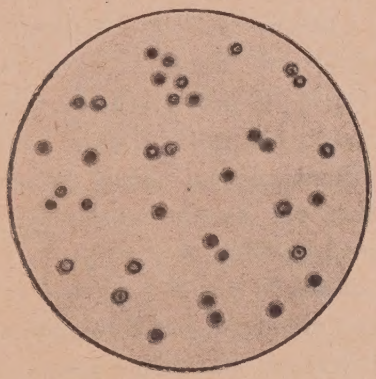


FIG. 3 - Aspetto morfologico di *Micrococcus* sp.

2 - *Penicillium crustosum* THOM

Determinazione cortesemente eseguita dal «Centraal-Bureau voor Schimmelcultures» di Baarn.

3 - *Penicillium flavidorsum* BIOURGE

Anche questa specie è stata determinata dal C. B. S. C'è tuttavia da osservare che il ceppo isolato dal sapone si discosta leggermente dal tipo, fermi rimanendo i caratteri microscopici, per il suo accrescimento continuo mentre quello di *Pen. flavidorsum* è tipicamente zonato.

4 - *Cladosporium* sp.

Comportamento delle forme isolate in mezzo alcalino e in mezzi naturali.

Il sapone sul quale furono rinvenute le vegetazioni descritte conteneva il 18.7 % di umidità e il 35.7 di grassi totali; la reazione era fortemente alcalina. Determinata l'alcalinità totale essa risultò, calcolata come Na_2O, pari al 9.1 %.

Trattavasi, comunque, di un sapone di contingenza, di uno di quei tanti saponi di fabbricazione quasi casalinga ottenuto empiricamente saponificando sego, probabilmente scadente, con liscivia sodica e colorandolo poi artificialmente. Il sapone in parola appariva anche discretamente caricato di talco.

L'umidità, piuttosto rilevante, poteva in gran parte dar ragione del riscontrato ammuffimento; tuttavia fu supposto anche che le specie rinvenute presentassero una elevata tollerabilità all'ambiente alcalino e la possibilità di utilizzare i grassi.

Per questo fu voluto saggiare il comportamento delle tre specie in mezzi variamente alcalinizzati, come pure in soluzioni e in pezzi di sapone, nonchè saggiare l'eventuale attacco dei grassi.

1 - *Prove di sviluppo su sapone in pezzi.*

Piccoli blocchi di sapone prelevati nella parte interna del pezzo furono collocati in provette sterili contenenti al fondo poche gocce di acqua o di brodo nutritivo sterile. Furono seminati quindi con *Micrococcus* sp. e con una sospensione di spore dei tre funghi. Al 30° giorno nessun sviluppo apparente fu registrato che potesse riguardare il blocchetto di sapone là dove fu seminato *Pen. crustosum* e il fungo Demaziaceo. Un sviluppo si notò invece nei tubi seminati con *Pen. flavidorsum;* notevole poi (v. fig. 2) nei tubi contenenti *Micrococcus* sp. - Questo formò infatti, nei blocchetti di sapone, vegetazioni del tutto paragonabili a quelle naturali.

2 - *Prove di sviluppo in soluzione di sapone.*

Una soluzione di sapone al 5 % fu distribuita in piccoli matracci e, previa sterilizzazione, seminata con le forme isolate.

In nessun caso fu registrato apprezzabile sviluppo.

3 - *Sviluppo in presenza di alcali sodico.*

Furono preparate soluzioni di idrato sodico allo 0.1 - 1 - 0.5 - 2.5 % in brodo nutritivo e distribuite in ragione di 50 cc. in piccole ERLERNMEYER. Seminate con le tre specie di funghi furono mantenute a temperatura di circa 24° C. per 25 giorni. La intensità di sviluppo e, pertanto, l'influenza esercitata dall'alcali fu desunta attraverso il peso delle membrane fungine raccolte a termine dell'esperienza ed essiccate a 110° C. Per il *Micrococcus* sp. l'influenza dell'alcali fu saggiata attraverso lo sviluppo delle patine colturali ottenute su agar-fagiuoli variamente alcalinizzato. Fu ottenuto:

a) influenza dell'alcali sodico sullo sviluppo di *Micrococcus* sp.

controllo	Na OH 0,1 %	0,5 %	1 %	2,5 %
+++++	++++	++++	++	—

b) influenza dell'alcali sodico sullo sviluppo di *Pen. crustosum, Pen. flavidorsum* e *Cladosporium* sp.

	Peso del corpo micelico essiccato a 110° C. dopo 25 gg. di sviluppo a 24° C.; mgr.:				
	Controllo	NaOH %			
		0,1	0,5	1	2,5
Pen. crustosum	46,7	49,2	52,6	15,1	—
„ *flavidorsum*	55,6	51,2	47,8	tr.	—
Cladosporium sp.	62,3	61,9	70.5	26,4	—

Questa esperienza dimostra che se anche dalla presenza dell'alcali le specie cimentate non sempre traggono vantaggio, per lo meno per presenza di moderate quantità non risentono danno.

4 - *Capacità di attacco dei grassi.*

È noto come non sia agevole di dimostrare esaurientemente il potere lipolitico nei microrganismi. D'altra parte, non si avevano a disposizione nep-

pure piccole quantità di quei grassi che meglio si prestano per simili ricerche. L'unica sostanza grassa di cui fu possibile di disporre fu la stearina (pura) alla quale, pertanto, si limitarono la ricerche.

Esse furono eseguite come segue: piccoli blocchi di stearina furono introdotti in provette sterili contenenti al fondo gocce di soluz. di CZAPEK senza glucosio ($NaNO_3$ 3, KH_2PO_4 1, KCl 0.5, $MgSO_4$ 0.5, $FeSO_4$ tr.) previamente sterilizzata. Quindi fu seminato con le note specie isolate. Lasciati i tubi a temperatura ambiente, dopo 30 giorni, fu notato sviluppo sensibile nei tubi seminati con *Pen. flavidorsum* e *Micrococcus* sp. Da notare, per quest'ultimo, che lo sviluppo dette luogo ad una vegetazione abbastanza diffusa di colore prima giallo-ocra, come, cioè, si presenta sul sapone e sugli agar, quindi virante al rosso arancione.

Contemporaneamente a questa esperienza ne fu eseguita un'altra, con differente metodo, e, cioè, insemenzando previa solidificazione agar-CZAPEK privo di glucosio emulsionato con stearina nel rapporto di 1 stearina e 4 di agar distribuito a becco di clarino in grossi tubi da saggio. Fu incubato, come al solito, per 30 giorni. Al trentesimo giorno fu notato un abbondante sviluppo nei tubi seminati con i due Penicilli.

Per avere indizio dell'eventuale attacco della sostanza grassa la superficie dell'agar fu coperta per 10 minuti con una soluzione satura di solfato di rame quindi, con precauzione, lavata con acqua. Come è noto i punti in cui il grasso risulta attaccato rimangono colorati in azzurro-verde per la formazione di saponi di rame insolubili. Ebbene, punti di attacco, furono notati nelle colture di *Pen. flavidorsum* e *Micrococcus* sp.; meno, in quelle dell'altra specie di Penicillo.

RIASSUNTO

Nella presente Nota viene descritta una singolare vegetazione microbica in pezzi di sapone preparato durante il periodo in cui questa sostanza faceva difetto e quindi, presumibilmente, con materiale di scarto e con metodo non razionale.

Le vegetazioni isolate risultarono riferibili ad un micrococco capsulato provvisoriamente indicato come *Micrococcus saponophilus* n. sp. (ad interim),

due Penicilli ed esattamente a *Pen. crustosum* THOM e *Pen. flavidorsum* BIOURGE, questo in forma non tipica e a un fungo Demaziaceo appartenente al gen. *Cladosporium.*

L'alterazione viene messa in rapporto con l'elevato grado di umidità presentato dal sapone, all'alcali-tolleranza delle specie isolate e con la loro capacità di attacco delle sostanze grasse sebbene tale capacità si sia dimostrata solo in parte e di limitato valore.